Smithsonian Tropical Research Institute

Minera Panamá

PROYECTO MINA DE COBRE PANAMÁ

ESTUDIO DE IMPACTO AMBIENTAL (EsIA)

CATEGORIA III

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO DE CONSERVACIÓN EX SITU DE ESPECIES DE INTÉRES DE ANFIBIOS

Compromisos de EsIA Aplicables	**Período reportado**	**Elaborado por**	**Fecha de Emisión del Reporte**
13202, 13207 13208, 13212 13221, 13223 13232, 13233	Noviembre-Enero	INSTITUTO SMITHSONIAN DE INVESTIGACIONES TROPICALES	5/2/2021

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO

"LA CONSERVACIÓN EX SITU DE RANAS DEL ÁREA DE DONOSO, RENOVACIÓN POR TRES AÑOS"

Período: Noviembre 2020-Enero 2021

Por: Roberto Ibáñez D., Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá, Smithsonian Tropical Research Institute (STRI)

Fecha: 5 de febrero de 2021

Introducción

El 1 de septiembre de 2019, Minera Panamá S.A. (MPSA) y el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI) firmaron un acuerdo con el fin de extender el proyecto de conservación ex situ de anuros del área de Donoso por tres años. Con este acuerdo se continuarán los esfuerzos de conservación e investigación que contribuirán al manejo y preservación de los anfibios de Donoso, enfocándose en las especies de interés (EdI). Este proyecto es coordinado por el Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá (PARC), que lleva a cabo las actividades de conservación ex situ dentro de instalaciones del STRI, ubicadas en Gamboa, provincia de Colón. En este informe se presentan los avances, de acuerdo a los objetivos acordados de este proyecto, realizados durante el período Noviembre 2020-Enero 2021.

Durante este trimestre, a pesar de las limitaciones resultado de la pandemia causada por el COVID-19 y de la cuarentena que implica la suspensión de operaciones de un gran número de actividades consideradas no esenciales, nosotros hemos podido manejar la situación y continuamos brindándole el todo cuidado requerido a las poblaciones de anfibios que mantenemos en el programa de conservación ex situ en Gamboa; al mismo tiempo, evitando o minimizando el riesgo a la salud de nuestros colaboradores. Estas actividades se realizaron siguiendo las regulaciones y la autorización de las entidades de gobierno correspondientes. No obstante, varias actividades adicionales fueron interrumpidas; las cuales, no están directamente vinculadas al cuidado y reproducción de los animales, como aquellas que están relacionadas con trabajo de campo. Estas actividades se tendrán que planificar y reprogramar en el futuro, cuando se retorne a la normalidad laboral en el país.

Objetivo 1. – Mantener la instalación para la cría y reproducción de poblaciones en cautividad de las especies de anfibios de interés de Donoso.

Debido a las restricciones por la pandemia del COVID-19, no ha sido posible seguir invirtiendo en la capacitación de personal; por lo que, no hemos recibido voluntarios, estudiantes, pasantes ni colaboradores de investigación en nuestras instalaciones durante estos meses.

Realizamos trabajos de mantenimiento y reparación de equipo en la instalación de Gamboa, principalmente relacionados a la inspección y limpieza de aires acondicionados, el mantenimiento del generador eléctrico y de la planta de tratamiento de aguas residuales. Continuamos con los trabajos de equipamiento y habilitación del último contenedor para

maximizar el espacio disponible para mantener anfibios en Gamboa; en el cual, ya hemos adecuado tanques de reproducción. Los trabajos de construcción de la pequeña edificación (150 m^2) destinada a la producción de invertebrados por la empresa Kunkel Constructions Inc., continuó durante noviembre y diciembre; sin embargo, éstos fueron suspendidos a finales de diciembre por cierre de actividades decretadas por el Ministerio de Salud (MINSA) y reiniciados a mediados de enero. Estamos a la espera de realizar algunas consultas al Ministerio de Ambiente (MiAmbiente) sobre el convenio que financiará parcialmente la construcción del edificio para la producción de invertebrados.

La producción de invertebrados continuó sin contratiempos e ininterrumpidamente en los salones temporales, ubicados en el área conocida como Santa Cruz. Continuamos produciendo grillos, dos especies de moscas de las frutas, colémbolos, larvas de polilla, lombrices de tierra, una especie de cucaracha, larvas de escarabajos ("mealworms"), cochinillas y tenebrios para alimentar a las poblaciones de anfibios en cautiverio. Además, iniciamos la producción de escarabajos del frijol para ampliar su dieta. Durante este trimestre, la producción de estos invertebrados sobrepasó el nivel requerido como alimento de las ranas que tenemos en Gamboa, lo cual es adecuado en caso de que ocurra una caída repentina en la producción de alimento para los anfibios.

Los números de individuos de las poblaciones en cautiverio de las especies de anfibios del área de Donoso, que manteníamos al 31 de enero de 2021, en Gamboa eran:

Especie	Machos	Hembras	Juveniles	Total	Reproducción en cautiverio	Renacuajos
Andinobates geminisae	36	83	48	167	+	73
Atelopus varius	314	228	254	796	+	~700
Craugastor evanesco	20	18	20	58	-	-
Gastrotheca cornuta	9	1	0	10	-	-
Oophaga vicentei	16	26	5	47	+	~2
Total	**395**	**356**	**327**	**1078**		**~775**

Nota: *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta* no presentan etapa de larvaria o renacuajo libre.

Al 31 de enero de 2021, teníamos 1078 ranas de cinco especies de anuros del área de Donoso. Entre las especies, que se mantienen en cautiverio, están cinco Especies de Interés (EdI) del Proyecto Mina de Cobre Panamá: *Andinobates geminisae*, *Atelopus varius*, *Craugastor evanesco, Gastrotheca cornuta* y *Oophaga vicentei*. Esta última ha sido considerada como una especie en peligro por la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN, principalmente debido a que se trata de una especie endémica con una distribución restringida.

Para las especies *Andinobates geminisae*, *Craugastor evanesco y Oophaga vicentei* originalmente se colectaron suficientes individuos fundadores para iniciar la población ex situ. Sin embargo, es recomendable obtener más individuos de *Atelopus varius* (6-10 hembras de la población en Nuevo Petaquilla) y *Gastrotheca cornuta* (13 machos y 19 hembras) para obtener una representatividad adecuada de su diversidad genética. La especie *G. cornuta* ha sido particularmente difícil de encontrar; por lo que, nos estaremos concentrando en la búsqueda de más individuos de esta especie. Esperamos reanudar expediciones este año, con el fin de recolectar más fundadores de esta especie.

Macho de *Andinobates geminisae*, transportando a uno de sus renacuajos en el dorso.

Durante este período, se mantuvieron 29 parejas de *Andinobates geminisae* en los tanques de reproducción y hubo varios eventos de reproducción de estas parejas. Resultado de los eventos reproductivos, para el final del período, se tenían 73 renacuajos y 48 juveniles. Adicionalmente, mantuvimos 21 parejas de *Oophaga vicentei* durante este período, que produjeron dos juveniles saludables y hemos observado dos renacuajos entre las plantas bromelias al final de este período. Debido a que no es recomendable manipular las bromelias para evitar la interrupción del cuidado parental de los huevos y renacuajos, no podemos establecer si hay más de éstos entre las plantas. Terminamos de añadir todas las bromelias artificiales disponibles a los tanques de reproducción de *O. vicentei* y estamos a la espera de más bromelias artificiales para colocar un mayor número de éstas por tanque; ya que, las bromelias artificiales han ayudado a incrementar la reproducción de estas ranas y han facilitado el trabajo requerido para su mantenimiento.

En el mes de enero, se hizo una redistribución de parejas de ranas fundadoras (i.e., provenientes del campo) y de ranas nacidas en cautiverio. Además, se hicieron modificaciones a tanques de reproducción y se cambió la grava en los recipientes para la puesta de huevos, con el fin de estimular su reproducción. Como resultado, aumentamos el número de parejas de adultos de *Craugastor evanesco* que manteníamos en tanques para su reproducción, pasando de 11 parejas a mantener 16 parejas; sin embargo, éstas no se han reproducido aún.

A partir de las tres puestas de *Atelopus varius* reportadas en el trimestre pasado, seguimos obteniendo post-metamorfos. Actualmente, sólo se mantienen aproximadamente 100 renacuajos de dos de estas puestas en tanques de reproducción. Durante estos tres meses, se colocaron cuatro parejas de *A. varius* en tanques de reproducción; de las cuales, una pareja colocó huevos fértiles que resultaron en unos 600 renacuajos y otra pareja se encuentra en amplexus (abrazo nupcial). Dos de estas parejas no depositaron huevos o no fueron viables. Como parte de los preparativos para un experimento en el laboratorio y un ensayo de

Hembra de *Oophaga vicentei* en una bromelia artificial.

liberación con *A. varius*, hemos realizado cruces de individuos cuyo linaje proviene de poblaciones de tierras bajas (i.e., Donoso) con individuos de linaje proveniente de poblaciones de tierras altas. A finales de este período, mantenemos renacuajos de estos cruces (i.e., ~600 renacuajos, no incluidos en el cuadro) y dos parejas están en amplexo. Con este experimento y ensayo de liberación determinaremos si una mayor diversidad genética de los individuos confiere una mayor resistencia o tolerancia al hongo patógeno de anfibios, *Batrachochytrium dendrobatidis*.

Pareja de *Atelopus varius* en abrazo nupcial (amplexus) dentro del tanque de reproducción (foto izquierda). Masa de huevos con renacuajos recién salidos de los huevos (foto derecha).

Además, se mantuvo una pareja de *Gastrotheca cornuta*, cuya hembra está cada vez más grávida; pero, todavía no se ha reproducido, a pesar de que el macho ha emitido llamados para atraer a la hembra. A través de estos intentos y eventos reproductivos, seguimos conformando paulatinamente poblaciones estables en cautiverio de las especies EdI de Donoso. En este sentido, para las especies que se han reproducido con mayor frecuencia, *Atelopus varius*, *Andinobates geminisae* y *Oophaga vicentei*, tenemos individuos fundadores (parentales) y descendientes de la primera generación filial (F1) y la segunda generación filial (F2) en las poblaciones en cautiverio. En el caso de *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta*, solamente se tienen parentales y descendientes F1.

Durante este trimestre, tres post-metamorfos de *Oophaga vicentei* presentaron el síndrome de patas débiles (SLS) en Gamboa; lo cual, se considera una prevalencia muy baja de este síndrome en nuestra población ex situ. Los post-metamorfos con SLS no pueden moverse normalmente para alimentarse y, como consecuencia, éstos mueren. En enero, iniciamos la adición de sales de calcio al agua donde se desarrollan los renacuajos de *O. vicentei* y las otras

especies (i.e., *Andinobates geminisae* y *Atelopus varius*) que tienen etapa de renacuajo. Ya que, según los resultados de nuestras investigaciones publicadas, este síndrome está asociado a la baja concentración de iones de calcio disueltos en el agua durante el desarrollo de los renacuajos.

Además, se ha continuado con la introducción de datos de los individuos de Donoso en la base de datos "Zoological Information Management System" (ZIMS) (http://www2.isis.org), lo cual facilita el manejo del inventario de animales, el control de la conformación genética y demográfica de las colecciones de animales vivos, la identificación de animales no relacionados para realizar cruces, el mantenimiento de un registro del estado de salud y el tratamiento que se le ha dado a cada individuo, entre otros.

Objetivo 2. – Continuar el trabajo para ensayos de liberación de anfibios en el área de Donoso.

Para este trimestre, no teníamos programado realizar ensayos de liberación de anfibios, debido a que el trabajo de campo está suspendido hasta que se pueda retornar a la normalidad. No obstante, nuestro colaborador Dr. Luke Linhoff, becario postdoctoral del Instituto Smithsonian, ha presentado algunos resultados (que se tienen hasta el momento) sobre los experimentos para determinar si las secreciones de la piel de las ranas realmente pueden disminuir o eliminar la infección por el hongo patógeno *Batrachochytrium dendrobatidis.* Ya que, se conoce que las secreciones de la piel que producen algunas especies de anfibios, en conjunto denominadas "mucosoma", inhiben el crecimiento del *B. dendrobatidis* en ensayos *in vitro*. Esto se ha observado incluso para el mucosoma de algunas especies que mantenemos en el proyecto PARC. Sin embargo, aún no se sabe si existe variación en las propiedades inhibitorias del mucosoma entre individuos de la misma especie o si las propiedades inhibitorias se heredan. Tampoco, se sabe con certeza si el mucosoma puede ayudar a combatir el *B. dendrobatidis* en los individuos infectados. Es por esto, que realizamos un experimento *in vivo* con individuos de especies con diferente grado de susceptibilidad a este hongo patógeno, éstas son: *Agalychnis callidryas*, *Andinobates geminisae*, *Atelopus certus*, *A. glyphus*, *A. limosus* y *A. varius*. Con este primer experimento *in vivo*, se determinó preliminarmente que existen diferencias en la eficacia inhibitoria del mucosoma entre especies e individuos de la misma especie que están infectados por el *B. dendrobatidis*. Ya que existe un efecto inhibitorio del mucosoma que contribuye a la supervivencia de las ranas infectadas, se procederá a investigar sobre la posibilidad de que estas características del mucosoma sean heredables. Si existe un efecto inhibitorio consistente y el mismo se hereda, podríamos seleccionar individuos cuyo mucosoma tiene propiedades inhibitorias y cruzarlos entre sí, para producir descendientes con esta característica. Estas investigaciones son particularmente relevantes para llevar a cabo liberaciones exitosas de ranas, ya que pudiésemos liberar individuos con cierta tolerancia o resistencia al hongo patógeno que se encuentra en el ambiente natural de estas especies de ranas, proporcionándoles alguna ventaja contra este hongo. Aún estamos por analizar varios hisopados de piel que fueron tomados durante el experimento *in vivo*, pero que no se han podido hacer por limitaciones para obtener los suministros de laboratorio que se requieren. Adicionalmente, el Dr. Linhoff requiere retornar a Panamá para realizar los ensayos *in vitro* que hacen falta para completar este estudio.

Objetivo 3. – Realizar expediciones para recolectar ciertas especies de anfibios en riesgo en el área de Donoso.

Durante este período no realizamos expediciones para recolectar individuos. Como se indicó anteriormente, *Gastrotecha cornuta* es una Especie de Interés (EdI), de la cual se requieren más individuos fundadores para establecer adecuadamente una población ex situ en Gamboa. Esperamos realizar una expedición al sitio 4CS6, luego que se reestablezca la normalidad de las operaciones en el país.

Objetivo 4. - Estudio de los hongos patógenos de anfibios en la región de Donoso.

Debido a que no realizamos expediciones a Donoso en este trimestre, no obtuvimos muestras de piel para el análisis del hongo patógeno de anfibios, *Batrachochytrium dendrobatidis*.